

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-330773

(43)公開日 平成7年(1995)12月19日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 D 487/22		7019-4C		
A 61 K 31/40	ADU			
49/00		C		
51/00				

A 61 K 49/02 A
審査請求 未請求 請求項の数5 書面 (全12頁)

(21)出願番号	特願平6-157791	(71)出願人	591273432 東洋薄荷工業株式会社 岡山県浅口郡里庄町大字浜中75番地の1
(22)出願日	平成6年(1994)6月7日	(72)発明者	阪田 功 岡山県笠岡市小平井1766番地の4
		(72)発明者	中島 進 北海道旭川市緑が丘5条4丁目4番地の34
		(72)発明者	小清水 弘一 奈良県奈良市法蓮山添西町856番地の10
		(72)発明者	高田 弘之 岡山県浅口郡里庄町里見2098番地
		(72)発明者	乾 裕史 岡山県笠岡市笠岡4913番地の9
		(74)代理人	弁護士 高橋 三郎

(54)【発明の名称】 ポルフィリン誘導体とその用途

(57)【要約】

【目的】 本発明は、側鎖上に不斉炭素がなく且つ種々の官能基を持たせるように工夫し色々な官能基を持つ生理活性物質と結合できるようにデザインされた癌指向性ポルフィリン系薬剤で、放射性金属 (R I) や中性子捕捉療法 (B N C T) のための¹⁰ B化合物と結合させて放射性診断、核磁気共鳴診断 (M R I) や B N C T に適した薬剤を提供することを目的とする。

【構成】 本発明は、種々の官能基 (ケトン基、水酸基、アミノ基、カルボキシル基など) 担持ポルフィリン類、およびそれに多官能性化合物を介して得られた放射性金属や¹⁰ B化合物との結合体で構成される。

させた後、レーザー光を照射して癌組織のみを選択的に蛍光診断し破壊するというものである。P D D Tは、ポルフィリンの癌組織に保持される時間が正常組織に比べて長いという性質と光増感作用を持つという2つの性質を利用している。過去13年間に世界中で3000人以上の人々がP D D Tによる悪性腫瘍の治療を受けており、癌治療法の1つとして定着しつつある。P D D Tにより良好な治療成績が報告されている癌種は、網膜癌、皮膚癌、食道癌、表在性膀胱癌、初期の肺癌など多岐に渡っている。また最近は、内視鏡を用いた蛍光診断にも利用されるようになった。

10

【0003】我々もこれらポルフィリンが持つ諸性質（癌親和性、蛍光物質、殺細胞性）を考慮に入れ700種以上の誘導体を合成し、特許出願してきた。そして癌組織集積性とポルフィリンの化学構造の関係を明らかにした。[Modern Medicine, 1993, 7月号(朝日新聞社発行)]そして特開昭62-174079を初め、ポルフィリン関連化合物として15の特許出願し、癌の光物理化学的蛍光診断・治療剤、放射性診断剤および核磁気共鳴造影剤を提供してきた。

20

【0004】しかしながら、我々が出願した化合物ならびに一般に開示されている化合物はポルフィリンの側鎖上で不斉炭素が存在するために立体異性体が生じ、得られた誘導体は混合物となり単離精製を困難にしている。したがって不斉炭素を含まないようなポルフィリン化合物が強く望まれていた。

30

【0005】現在癌の診断や治療に用いられようとしているモノクローナル抗体は最も期待されたミサイル療法である。しかしこの方法では当初考えられたほど抗体が癌組織に集積性を示さず、抗体が高分子量であるために、臨床例で高率にその抗体に対する抗体すなわちH A M A現象が生じることが明らかになった。そして大きな壁にぶつかって進展を阻まれている。一方スマンクスに代表される高分子に制癌剤などを結合させて治療を行う方法にも限界があり（動脈注射法では良好な成績が見られる、しかし静脈投与ではそれほどでもない）、難しい。

【0006】

40

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、ポルフィリン骨格上の側鎖を不斉炭素不含- $\text{C}(\text{H})\text{O}$ 、- $\text{C}(\text{H})_2$ 、 OH 、- COOH および- NH_2 などの官能基を有する化合物に誘導体化すれば、放射性短半減期金属化合物（ラジオアイソトープ、R I 化合物）、中性子捕捉療法用 ^{10}B 化合物や制癌剤などの種々の官能基を持つ生理活性物質と縮合または結合し、癌の新規な診断・治療剤を提供できるのではないかと、種々研究を重ねた。

【0007】

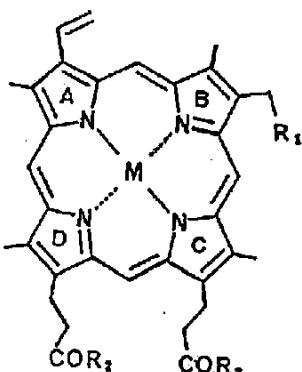
50

【問題を解決するための手段】その結果、前々願誘導体（特願平5-97857号）および前願誘導体（特願平4-276488号）の中で血液由来のプロトポルフィ

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



[式中、R₁ は X、OH、OX、NH₂ または NHX、R₂ は OH または Y、X は多官能性カルボン酸から 2 H あるいは OH を除いた残基、Y はアミノ酸またはアミノアルコールから H を除いた残基、M は 2 H、Zn または Mn) で示されるポルフィリンあるいは金属ポルフィリン化合物。（但し式中、ポルフィリン骨格の 4 つのピロール環のうち A 及び B 環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む。）

【請求項2】 請求項1記載のポルフィリンおよび金属ポルフィリン化合物からなる診断用および/または治療用担体。

【請求項3】 癌の診断に使用される請求項2記載の担体と短半減期放射性金属との組み合わせからなる放射性診断剤。

【請求項4】 癌の診断に使用される請求項2記載のMn金属ポルフィリン化合物からなる核磁気共鳴用診断剤。

【請求項5】 癌の診断および/または治療に使用される請求項2記載の¹⁰B 携持Mnポルフィリン化合物からなる核磁気共鳴用診断剤および/または中性子捕捉療法用治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ポルフィリン誘導体とその用途、癌の診断・治療を行うためのミサイル的役割を果たす担体、特に新規なポルフィリンおよび金属ポルフィリン誘導体を有効成分とするシンチグラフィー、核磁気共鳴ならびに核磁気共鳴および/または中性子捕捉による癌の診断および/または治療に用いる薬剤に関する。

【0002】

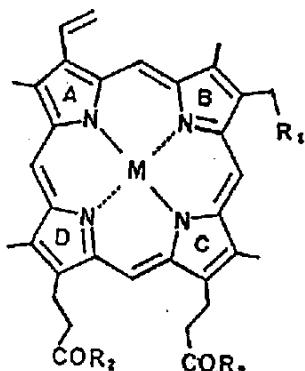
【従来の技術】癌の新しい診断・治療法として光物理化学的蛍光診断・治療 [Photodynamic Diagnosis and Therapy (P D D T)] が行われている。これはある種のポルフィリン化合物を静脈注射などの方法により投与し、癌組織に保持

リンより合成誘導体化して得られたクロリン類を出発原料として、再度全不飽和（血液由来の4個のテトラピロール型）であるポルフィリンに転換しスピログラフィスポルフィリン【S P（ホルミルポルフィリン）】に導き、本ホルミル（-CHO基）官能基を化学転換して、-CH₂OH、-COOHおよびCH₂NH₂に誘導体化すれば、立体異性体を含まない癌組織に対して優れた集積性を持つ担体になることを見いだした。

【0008】本担体を用いて、ヒドラジノ基（-NHNH₂）、カルボン酸基（-COOH）、アミノ基（-NH₂）またはケトン基（=CO）を持つ生理活性物質を縮合ならびに結合させることができた。また本担体は前願の発明の詳細な説明の項で述べた 1) アルブミンテスト 2) ダンシルメチオニンテスト 3) 蛍光強度及び螢光寿命測定の結果よりそれぞれの用途別に利用できることが判った。したがって本誘導体は癌の診断・治療のための良好な担体になると思われた。

【0009】本発明は上記の知見に基づいて完成されたものであって、その要旨は一般式

【化2】



【式中、R₁はX、OH、OX、NH₂またはNHX、R₂はOHまたはY、Xは多官能性カルボン酸から2HあるいはOHを除いた残基、Yはアミノ酸またはアミノアルコールからHを除いた残基、Mは2H、ZnまたはMn）で示されるポルフィリンあるいは金属ポルフィリン化合物。（但し式中、ポルフィリン骨格の4つのピロール環のうちA及びB環の側鎖の官能基がそれぞれ入れ替わった位置異性体も含む。）

【0010】上記各記号の意味に関して使用された「アミノ酸」なる語は必須アミノ酸を示し、「多官能性カルボン酸」なる語は1個のカルボキシル基あるいはその誘導体に加え、少なくとも1個の官能基（例えば-NH₂、-OH、-SH、-COOH、NH₂・NH-、¹⁰B）を有するものを言う。好ましくは、キレート形成能基を有するエチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）やジカルボン酸であるマロン酸、コハク酸、マレイン酸、グルタル酸、フタル酸、アミノマロン酸を挙げることができ、アミノベンゾヒドラジド、安息香酸ヒドラジド、カルバジ

ン酸などのヒドラジド誘導体も使用されてよい。また中性子捕捉療法用の¹⁰B誘導体も含まれる。一方、「アミノアルコール」なる語はモノエタノールアミン、ジグリコールアミン、アミノ糖であるグルコサミンを意味する。

【0011】本発明の各種官能基（-CHO、-OH、-COOH、-NH₂）を持つポルフィリンは新規物質であり、自体常套によってこれを製造することができる。一般式に対応するR₁が-C=O基を有する化合物にあっては、まずプロトポルフィリンジメチルエステルの光酸化を行い（工程a）、還元・酸化（工程b）を経て、金属錯体化（工程c）へ進み、得られた金属ホルミルポルフィリン体を加水分解（工程d）せしめる。なお加水分解工程（d）は各種工程の前後を問わず、必要に応じ調製して良い。

【0012】また、一般式に対応するR₁が-OH基を有する化合物にあっては、先の工程dで得られた金属ホルミル体を還元すればよい（工程e）。一方、一般式に対応するR₁が-COOH基を有する化合物にあって

20 は、先の工程dで得られた金属ホルミル体を酸化（工程f）あるいはカルボン酸残基を持つヒドラジノ誘導体で縮合（工程g）、または工程eで得られたOH体にジカルボン酸を結合すればよい（工程h）。他方、一般式に対応するR₁が-NH₂基を有する化合物にあっては、先の工程dで得られた金属ホルミル体にオキシ化（工程i）またはアルキルニトロ化（工程j）を行い、それぞれ別々に還元（工程k）処理して目的とする金属アミノポルフィリン体を得る。また、必要があればR₂のカルボン酸残基保護や溶解促進のためにアミノ酸またはアミノアルコールをアミド結合させる（工程l）。

【0013】かくして上記で得られたR₁に-OH基や-NH₂基などの官能基を持つ各誘導体についてEDTA化またはDTPA化を行う（工程m）。放射性診断剤として用いるには、得られた多官能性カルボン酸を持つポルフィリン誘導体に特願平1-60320と同様に処理して短半減期放射性金属を骨格外に錯体化すればよい（工程n）。

【0014】また、中性子捕捉療法（BNCT）薬剤として治療用に用いるには、上記で得られたNH₂基などの官能基を持つ誘導体に¹⁰B誘導体（例えばドデカボラン、ボロノアミノ酸）を結合させればよい（工程o）。

【0015】更に、生理活性物質（例えば制癌剤）を結合せしめるには、上記で得られた種々の官能基を持つポルフィリンと生理活性物質とをアミド結合、エステル結合、ヒドラゾン結合させればよい（工程p）。

【0016】構成工程（a、b、cおよびd）はJ. E. Falk著 [Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier 発行、1975年) およびD. Dolphin著 [Th

e Porphyrins] (Academic Press発行、1978年) 等に記載された常套の方法によつてこれを行うことができる。

【0017】すなわち、工程(a, b)については光化学反応を利用してクロリン化工程(フォトプロトポルフィリン)を経由し、NaBH₄還元でジオールとなし、NaIO₄酸化で分解してこれを行うことができる。錯体化工程(c)については通常、金属の塩化物、酢酸塩、硫酸塩、硝酸塩等を使用してこれを行う。金属の種類としては、長寿命効果があるZn、Ga、逆に短縮効果があるMn、Cu、Feなどが挙げられる。またこの金属導入工程(c)は各種工程の前後を問わず、必要に応じ調整して良い。人為的に合成する代わりに、植物や動物のような天然資源からこれを採取しても良い。

【0018】次に、以上のようにして構成したホルミル化合物および/またはその金属錯体(I)を末端OH基に誘導体化するには還元工程(e)に付す。すなわち、スピログラフィスおよび/またはその金属錯体をNaBH₄処理して、目的担体のアルコール基担持ポルフィリン誘導体(II)を製造する。また末端COOH基に誘導体化するには、(I)を酸化工程(f)あるいはヒドロジン誘導体による縮合工程(g)、あるいは(II)をジカルボン酸によるエステル結合工程(h)に付す。すなわち、(I)をAg₂O等の酸化剤で処理するかまたはカルボン酸担持ヒドロジン誘導体と反応させるか、あるいは(II)をジカルボン酸無水物と反応させて目的担体であるカルボキシル基担持ポルフィリン誘導体(III)を製造する。その具体例としては以下のものを挙げることができる。

(1) 2-ヒドロキシメチル-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下OH-SPと言う)

(2) 2-ヒドロキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下OH-Mn-SPと言う)

(3) 2-ヒドロキシメチル-4-ビニル-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下OH-SP-Aspと言う)

(4) 2-ヒドロキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下OH-Mn-SP-Aspと言う)

(5) 2-カルボキシ-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下COOH-SPと言う)

(6) 2-カルボキシ-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下COOH-Mn-SPと言う)

(7) 2-カルボキシ-4-ビニル-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下COOH-SP-Aspと言う)

(8) 2-カルボキシ-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下COOH-Mn-SP-Aspと言う)

(9) 2-メチリデンヒドロジノ-p-安息香酸-4-ビ

ニル-デューテロポルフィリン(以下pPhCOOH-SPと言う)

(10) 2-メチリデンヒドロジノ-p-安息香酸-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下pPhC_{OOH}-Mn-SPと言う)

(11) 2-メチリデンヒドロジノ-p-安息香酸-4-ビニル-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下pPhCOOH-SP-Aspと言う)

(12) 2-メチリデンヒドロジノ-p-安息香酸-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下pPhCOOH-Mn-SP-Aspと言う)

(13) 2-メチリデンヒドロジノ-m-安息香酸-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下mPhCOOH-SPと言う)

(14) 2-メチリデンヒドロジノ-m-安息香酸-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下mPhC_{OOH}-Mn-SPと言う)

(15) 2-メチリデンヒドロジノ-m-安息香酸-4-ビニル-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下mPhCOOH-SP-Aspと言う)

(16) 2-メチリデンヒドロジノ-m-安息香酸-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィル-6、7-ビスアスパラギン酸(以下mPhCOOH-Mn-SP-Aspと言う)

(17) 2-サクシニルオキシメチル-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下succinyl-O-SPと言う)

(18) 2-サクシニルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下succinyl-O-Mn-SPと言う)

(19) 2-グルタルリルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン(以下glutaryl-O-Mn-SPと言う)

(20) 2-メチリデンカルバジン酸メチル-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下NHCOOEt-Mn-SPと言う)

(21) 2-メチリデンセミカルバゾン-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下NHCONH₂-Mn-SPと言う)

(22) 2-メチリデンチオセミカルバゾン-4-ビニル-デューテロポルフィリン(以下NHCSNH₂-Mn-SPと言う)

【0019】一方、(I)を末端NH₂基に誘導体化するには、縮合(工程iまたはj)ついで還元(工程k)に付す。すなわち、(I)にオキシムまたはニトロアルカンを縮合反応させる。次いで、Zn/HOAc等の適当な還元剤で処理して目的担体であるアミノ基担持金属ポルフィリン誘導体(IV)を製造する。また、必要であれば、R₂を適宜、溶解促進または保護基としてアミ

ド結合（工程1）に付す。すなわち、R₂のカルボン酸残基に、アスパラギン酸等のアミノ酸またはモノエタノールアミンやアミノグルコース等のアミノアルコールを縮合剤W S Cなどを用いて反応させて、目的のポルフィリン化合物を製造する。また加水分解（工程d）は各工程の前後を問わず、必要に応じ調製して良い。

【0020】以下に、代表例を挙げて、本願アミノ基担持ポルフィリン化合物（IV）の調整を、更に具体的に説明する。例えば、式中R₁がNH₂、MがMn、R₂がOHの場合（25）には、前々願、前願において記載のフォトプロトポルフィリンジメチルエステルをNaBH₄にて還元後、NaIO₄で酸化分解してスピログラフィスジメチルエステルを得る。本アルデヒド体をヒドロキシルアミンにてオキシム化を行い、次いでポルフィル骨格内にZn金属錯体化を施した。得られたZn金属オキシムポルフィリンジメチルエステルを酢酸中Zn粉末にて還元し、次いでZn錯体からMn錯体に変換後加水分解処理し、目的とする担体、Mn金属アミノ基担持ポルフィリン（25）を得た。その具体例としては以下のものを挙げることができる。

【0021】（23）2-アミノメチル-4-ビニル-デューテロポルフィリン（以下NH₂-SPと/or）

（24）2-アミノメチル-4-ビニル-Zn-デューテロポルフィリン（以下NH₂-Zn-SPと/or）

（25）2-アミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン（以下NH₂-Mn-SPと/or）

（26）2-アミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸（以下NH₂-Mn-SP-Aspと/or）

（27）2-サクシニルアミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン（以下succinyl NH-Mn-SPと/or）

（28）2-サクシニルアミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸（以下succinyl NH-Mn-SP-Aspと/or）

（29）2-グルタリルアミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン（以下glutaryl NH-Mn-SPと/or）

（30）2-アミノメチル-4-ビニル-Zn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアミノエタノール（以下NH₂-Zn-SP-NHEtOHと/or）

（31）2-アミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアミノエタノール（以下NH₂-Mn-SP-NHEtOHと/or）

（32）2-メチリデンp-アミノベンゾヒドラゾン-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン（以下pPhNH₂-Mn-SPと/or）

（33）2-メチリデンm-アミノベンゾヒドラゾン-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン（以下mPhNH₂-Mn-SPと/or）

hNH₂-Mn-SPと/or）

（34）2-アミノメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスグルコサミン（以下NH₂-Mn-SP-NHg1uと/or）

【0022】一方、以上によって得られたOH基やNH₂基等の官能基を持つポルフィリン誘導体に、以前出願（特願平1-60320号）した条件にてEDTA化、DTPA化（工程m）、続いて放射性診断剤のための短半減期放射性金属で錯体化（工程n）を行った。

【0023】上記担体を用いて更に癌の診断剤や治療剤として利用するには、以下に代表例を挙げてキレート剤担持ポルフィリンの調製を更に具体的に説明する。例えば、先に得られた化合物OH-Mn-SP-Asp

（4）をピリジン等の有機溶媒に溶解し、DTPAを加え以前出願した（特開昭62-174079号、特公平4-24661号、特開平2-76881号、特開平3-261786号）の方法にしたがって合成・精製処理し、DTPA結合ポルフィリン誘導体（36）を得た。その担体例としては、以下のものを挙げができる。

【0024】（35）2-ジエチレントリアミン-4酢酸-アセチルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン [以下DTPAO-Mn-SP (STA-R21)と/or]

（36）2-ジエチレントリアミン-4酢酸-アセチルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸 [以下DTPAO-Mn-SP-Asp (STA-R12)と/or]

（37）2-ジエチレントリアミン-4酢酸-メチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン [以下DTPANH-Mn-SP (STA-RN101)と/or]

（38）2-ジエチレントリアミン-4酢酸-メチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸（以下DTPANH-Mn-SP-Aspと/or）

【0025】結合金属が放射性金属であるポルフィリン化合物の金属複合体は、上記と同様にして対応するキレート剤担持ポルフィリン化合物と対応する放射性金属化合物からこれを調製することができる。例えば放射性金属が⁶⁷Ga、¹¹¹Inまたは²⁰¹Tlである場合は、それぞれ⁶⁷GaCl₃、¹¹¹InCl₃または²⁰¹TlCl₃を使用すればよい。また、放射性金属が^{99m}Tcである場合は、過テクネチウム酸塩（例えばNa^{99m}TcO₄）を適当な還元剤（たとえばハイドロサルファイトナトリウム、塩化第一スズ）とともに使用すればよい。かくしてえられるキレート剤担持ポルフィリン金属複合体の具体例は次のとおりである。

【0026】（39）2-^{99m}Tc-ジエチレントリアミン-4酢酸-アセチルオキシメチル-4-ビニル-

9
Mn-デューテロポルフィリン [以下^{99m} Tc-DT PAO-Mn-SP (^{99m} Tc-STA-R21) と言う]
(40) 2-¹¹¹ In-ジエチレントリアミン-四酢酸-アセチルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン (以下¹¹¹ In-DTPAO-Mn-SP と言う)

(41) 2-^{99m} Tc-ジエチレントリアミン-四酢酸-アセチルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸 [以下^{99m} Tc-DTPAO-Mn-SP-Asp (^{99m} Tc-STA-R12) と言う]
(42) 2-¹¹¹ In-ジエチレントリアミン-四酢酸-アセチルオキシメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸 (以下¹¹¹ In-DTPAO-Mn-SP-Asp と言う)

(43) 2-^{99m} Tc-ジエチレントリアミン-四酢酸-メチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン [以下^{99m} Tc-DTPANH-Mn-SP (^{99m} Tc-STA-RN101) と言う]
(44) 2-¹¹¹ In-ジエチレントリアミン-四酢酸-メチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン (以下¹¹¹ In-DTPANH-Mn-SP と言う)

(45) 2-^{99m} Tc-ジエチレントリアミン-四酢酸-メチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸 (以下^{99m} Tc-DTPANH-Mn-SP-Asp と言う)

(46) 2-¹¹¹ In-ジエチレントリアミン-四酢酸-メチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸 (以下¹¹¹ In-DTPANH-Mn-SP-Asp と言う)

【0027】他方、BNCT療法用¹⁰ B化合物と結合させるには(工程o)、好ましくはNH₂基等の官能基を持つポルフィリン誘導体が選ばれる。すなわち、(IV)にカルボン酸残基を持つドデカボラン誘導体(Na₂¹⁰ B₁₂ H₁₁ SCH₂CH₂COOH)を適当な縮合剤DCC、WSCなどを用いてアミド縮合させた。以上これらの諸反応は、一般有機化学実験書中に記載された常套の方法によって、これを行うことができる。なおいざれの場合も、適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤や縮合剤の使用も考慮されてよい。

【0028】次に、¹⁰ B担持Mnポルフィリンの調製を更に具体的に説明する。例えば、先に得られた化合物NH₂-Mn-SP-Me (25のジメチルエスチル体)をDMF等の有機溶媒に溶解し、別途調製したNa₂¹⁰ B₁₂ H₁₁ SCH₂CH₂COOHを加え縮合

10
剤としてWSCを用いてアミド結合体を得る。得られたエスチル体を加水分解して¹⁰ B担持Mn-ポルフィリン誘導体を得た。その具体例としては、以下のものを挙げることが出来る。

【0029】(47) 2-ドデカボラニルチオエチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィリン [以下¹⁰ B₁₂-NH₂-Mn-SP (STA-BX900) と言う]
(48) 2-ドデカボラニルチオエチルカルバモイルメチル-4-ビニル-Mn-デューテロポルフィニル-6、7-ビスアスパラギン酸 [以下¹⁰ B₁₂-NH₂-Mn-SP-Asp (STA-BX902) と言う]

【0030】本発明によるポルフィリン誘導体の医薬品製剤の製造は自体公知法により行われ、本発明による誘導体を適当な緩衝液で溶解するだけでよい。好適な添加物として例えば医薬的に容認できる溶解補助剤(例えば有機溶媒)、pH調製剤(例えば酸、塩基、緩衝液)、安定剤(例えばアスコルビン酸)、賦形剤(例えばグルコース)、等張化剤(例えば塩化ナトリウム)などが配合されてもよい。

【0031】本発明による薬剤はポルフィリン系薬剤としての必要十分な特性すなわち発光寿命、アルブミンに対する親和性、特定臓器特に癌に対する特異的集積性、殺細胞効果、水溶性、純度などを充分満足しているものである。本発明による薬剤の良好な水溶性は、高濃度溶液(50mg/ml)の製造を可能とし、更に本発明による薬剤は試験管内だけでなく生体内でも高い安定性を示す。

【0032】
【作用】本発明にかかるポルフィリン化合物は、ポルフィリン骨格の側鎖末端に、アルデヒド残基・アルコール残基・アミノ残基、またはカルボン酸残基など種々の官能基を持ち、あるいはポルフィリン骨格内に金属錯体を有する点に化学構造上の特徴を有し、他の生理活性物質との付加体・縮合体を構築しやすいように工夫した化合物である。その結果種々の生理的もしくは薬理学的特性を発揮する。

【0033】これらポルフィリン誘導体は癌細胞に選択的に集積し、かつ癌細胞からの排泄が遅い。なお、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄されるため、それらに損傷を与えることはない。元来、ポルフィリン誘導体の殆どものは光に対して強い作用を有するが、本発明に従ってポルフィリン誘導体の側鎖に多官能性化合物残基を導入ならびに金属錯体化することによって正常組織からの排泄性を高めるとともに、光毒性の発現を抑制するようデザインした誘導体が可能となった。また、これらからラジオアイソトープや¹⁰ Bなどの生理活性物質を誘導体化することによって、診断や治療を目的とする担体にもなることが出来た。これらの特性(癌親和性、殺細胞効果、水溶性、生理活性物質の担体)に基づき、

本発明のポルフィリン誘導体は特定の臓器、特に癌や悪性腫瘍に対する診断・治療用の薬剤として有用である。

【0034】以下実施例を挙げて説明する。なお、実施例での収率はすべて出発原料であるSP-Meやその中間体から換算し求めた値である。

【0035】

【実施例】

実施例 1

スピログラフィスピルフィリンジメチルエステルの合成
特開平5-97857ならびにR. K. Dineillo
らの方法 [The Porphyrins, Academic Press発行, Vol 1, 303 (1978)] に準じて合成した。すなわち、フォトプロトボルフィリンジメチルエステル (P-Me) 1 gをクロロホルム300mlに溶解し、室温攪拌下に5%ソジウムボロハイドライド (SBH) のメタノール溶液20mlを滴下後30分間反応せしめた。反応後、反応液に10%クエン酸水溶液を加え、水洗分液後クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をジオキサン100mlに溶解し、10%過ヨウ素酸ナトリウム水溶液10mlおよび3%塩酸40mlを加え、室温で18時間放置した。反応溶液中に析出した紫色結晶を濾取し、水洗乾燥後クロロホルム-メタノールにて再沈殿し、スピログラフィスピルフィリンジメチルエステル (SP-Me)を得た。(450mg、47.3%)

【0036】実施例 2

SP-Meの還元

実施例1で得られたSP-Me 2 gをクロロホルム100mlに溶解後、1%ソジウムボロハイドライド/メタノール溶液100mlを加え還元した。還元液を20%クエン酸溶液、0.9%生理食塩水で洗浄後減圧濃縮し、クロロホルム-n-ヘキサンにより再沈殿を行いOH-SP-Me [(1)のメチルエステルを得た。(2g、収率97.1%)

【0037】実施例 3

OH-SP-MeのMn金属錯体化

実施例2で得られたOH-SP-Me 2 gをクロロホルム-メタノール(1:1 v/v)100mlに溶解し、酢酸マンガン4 gを加えて60℃に加温し、攪拌下2時間反応させた。反応液にクロロホルムを加え0.9%生理食塩水、次いで20%クエン酸溶液で洗浄後、クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行いOH-Mn-SP-Me [(2)のメチルエステル]を得た。(2.3g、収率100%)

【0038】実施例 4

OH-Mn-SP-Meの加水分解

実施例3で得られたOH-Mn-SP-Me 2.3 gをエタノール20mlに溶解後、10%水酸化ナトリウム溶液30mlを加え加水分解した。加水分解液を20%

クエン酸溶液にて中和後クロロホルムで抽出した。抽出物を減圧濃縮しメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行いOH-Mn-SP (2)を得た。

(2.05g、収率92.8%)

【0039】実施例 5

OH-Mn-SPのアスパラギン酸誘導体化

実施例4で得られたOH-Mn-SP (2) 1.0 gをメタノールに溶解し、ジシクロヘキシルアミン (DCHA) にて常法によりOH-Mn-SP-DCHA塩

10 (1.5 g)とした。本DCHA塩をクロロホルム60mlおよびアセトニトリル20mlに溶解し、アスパラギン酸ジメチルエステル (AspMe) 塩酸塩1.5 gを加え、水溶性カルボジイミド (WSC) 1.9 gを徐々に加えて4時間反応させた。反応後 (TLCにて反応終末点を確認)、反応液を水洗分液後、クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をエタノール20mlに溶解後、10%水酸化ナトリウム溶液30mlを加え加水分解した。加水分解液を20%クエン酸溶液にて中和後クロロホルムで抽出した。抽出物を減圧濃縮しメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行いOH-Mn-SP-Asp (4)を得た。(1.3g、収率96.3%)

【0040】実施例 6

OH-Mn-SPおよびOH-Mn-SP-AspのDTPA誘導体化

実施例4で得られたOH-Mn-SP (2) 1.0 gおよび実施例5で得られたOH-Mn-SP-Asp

30 (4) 1.3 gをそれぞれ別々に採り、特開平2-76881に準じて操作し、前者はピリジン56mlに溶解し無水ジエチレントリアミン五酢酸(無水DTPA)2.0 gを加え、室温攪拌下に20時間反応させた。後者はピリジン75mlに溶解し無水DTPA 2.8 gを加え、室温攪拌下に4時間反応させた。反応後、それぞれ別々に反応液をろ過しろ液を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチルにて再沈殿を数回繰り返し行い、DTPAO-Mn-SP [STA-R21 (35)] およびDTPAO-Mn-SP-Asp [STA-R12 (36)]を得た。(0.2g、収率12.7%、0.32g、収率17.3%)

【0041】実施例 7

OH-Mn-SPのコハク酸誘導体化

実施例4で得られたOH-Mn-SP (2) を100ml採り、ピリジン5mlに溶解し無水コハク酸100mgを加え室温攪拌下に30分間反応させた。反応後、反応液をろ過し、ろ液を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチルにて再沈殿を数回繰り返し行い、Succinyl-O-Mn-SP (18)を得た。(90mg、収率78.0%)

【0042】実施例 8

SP-Meオキシム体の合成

13

実施例1で得られたS P-M e 7. 0 gをピリジン7 8 0 m lに溶解後、塩酸ヒドロキシルアミン1 8 gを加え室温攪拌下に3 0分反応させた。反応液を減圧濃縮後、濃縮物に0. 9%生理食塩水1 lを加え結晶を析出させ濾取した。得られた結晶を乾燥後、クロロホルム-メタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行いS P-M eのオキシム体(N OH-S P-M e)を得た。(7. 2 g、收率1 0 0 %)

【0 0 4 3】実施例 9

N OH-S P-M eのZ n金属錯体化

実施例8で得られたN OH-S P-M e 2. 0 gをクロロホルム1 0 0 m lに溶解し、メタノール1 0 0 m lに酢酸亜鉛5 gを溶解した液を加えて、室温攪拌下1時間反応させた。反応液にクロロホルムを加え0. 9%生理食塩水および5%クエン酸溶液で洗浄後、クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をピリジン-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行いN OH-Z n-S P-M eを得た。(2. 2 g、收率1 0 0 %)

【0 0 4 4】実施例 10

N OH-Z n-S P-M eの還元

実施例9で得られたN OH-Z n-S P-M e 2. 0 gを、ジメチルスルホキシド1 0 0 m lおよび酢酸2 0 0 m lに溶解後、室温攪拌下に亜鉛粉末1 2 gを数回に分けて加え5時間反応した。反応液を濾過し濾液に1 5%食塩水9 0 0 m lを加え結晶を析出させ濾取した。得られた結晶を乾燥後、クロロホルム-メタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を数回行い、N H₂-Z n-S P-M e [(2 4)のメチルエステル]を得た。(7 0 0 mg、收率3 5. 7 %)

【0 0 4 5】実施例 11

N H₂-Z n-S P-M eのM n金属錯体化

実施例10で得られたN H₂-Z n-S P-M e 7 0 0 m gを酢酸7 0 m lに溶解後、酢酸マンガン3. 4 gを加えて6 0 ℃に加温し、攪拌下3時間反応させた。反応液に1 5%食塩水4 0 0 m lを加え結晶を析出させ濾取した。得られた結晶を乾燥後、クロロホルム-メタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を数回行い、N H₂-M n-S P-M e [(2 5)のメチルエステル]を得た。(3 7 5 mg、收率5 4. 4 %)

【0 0 4 6】実施例 12

N H₂-M n-S PのD T P A誘導体化

実施例11で得られたN H₂-M n-S P-M e 1 0 0 m gをピリジン2 m lに溶解し、1 0%ピリジン1 0 m l、無水D T P A 0 0 m gを加え、室温攪拌下に3 0分反応させた。反応後、反応液をろ過しろ液を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチルにて再沈殿を数回繰り返し行い、D T P A N H-M n-S P-M e [(3 7)のメチルエステル] 4 5 mgを得た。得られた結晶体全量を4 5 m gをメタノール1 0 m lに溶解後、1 0%水酸化ナトリウム溶液1 0 m lを加え室温下

14

3時間放置し加水分解した。加水分解液を2 0%クエン酸水溶液にて中和後、クロロホルムで抽出した。抽出物を減圧濃縮しメタノール-酢酸エチルにて再沈殿を行い、D T P A N H-M n-S P [S T A-R N 1 0 1 (3 7)]を得た。(3 0 m g、收率9. 3 %)

【0 0 4 7】実施例 13

N H₂-M n-S Pのコハク酸誘導体化

実施例11で得られたN H₂-M n-S P-M eを5 0 m g採り、ピリジン5 m lに溶解し無水コハク酸3 0 m gを加え室温攪拌下に3 0分間反応させた。反応後、反応液をろ過しろ液を減圧濃縮した。得られた濃縮物をメタノール-酢酸エチルにて再沈殿を数回繰り返し行い、S u c c i n y 1 N H-M n-S P-M e [(2 7)のメチルエステル] 4 0 m gを得た。得られた褐色結晶体全量をメタノール1 0 m lに溶解後、1 0%水酸化ナトリウム溶液1 0 m lを加え室温下3時間攪拌して加水分解した。加水分解液を2 0%クエン酸水溶液にて中和後、クロロホルムで抽出した。抽出物を減圧濃縮しメタノール-酢酸エチルにて再沈殿を行いS u c c i n y 1

N H-M n-S P (2 7)を得た。(3 0 m g、收率5 6. 9 %)

【0 0 4 8】実施例 14

S T A-R 2 1、S T A-R 1 2およびS T A-R N 1 0 1の^{99m}T c標識特開平2-7 6 8 8 1と同様に操作して各ポルフィリン誘導体の^{99m}T cによる標識を行った。すなわち、アスコルビン酸3 5 m gを脱酸素水1 0 0 m lに溶解し、アスコルビン酸溶液とした。一方、無水塩化第一スズ1 9 0 m gを脱酸素水1 0 0 m lに溶解しスズ溶液とした。他方、脱酸素酢酸緩衝液(p H 5. 2)を用意した。アスコルビン酸溶液、スズ溶液および酢酸緩衝液を混合し、各ポルフィリン誘導体[実施例6で得られたS T A-R 2 1 (3 5)、S T A-R 1 2 (3 6)および実施例1 2で得られたS T A-R N 1 0 1 (3 7)] (1. 5 m M)を別々に加え、標識に供するまで凍結保存した。動物実験を行う前に凍結3種各誘導体含有溶液を解凍し、過テクネチウム酸ナトリウム [^{99m}T C] /生理食塩水0. 3 m l(標識時放射能: 3 0 0 M B q)を加えて、振とう混和し^{99m}T C-D T P A O-M n-S P [^{99m}T C-S T A-R 2 1 (3 9)]、^{99m}T C-D T P A O-M n-S P-A s p [^{99m}T C-S T A-R 1 2 (4 1)]および^{99m}D T P A N H-M n-S P [^{99m}T C-S T A-R N 1 0 1 (4 3)]の注射液をそれぞれ別々に調製した。標識率(放射化学的純度)は9 0%以上であった。

【0 0 4 9】実施例 15

^{99m}T C-S T A-R 2 1、^{99m}T C-S T A-R 1 2および^{99m}T C-S T A-R N 1 0 1の担癌動物実験

実施例14で得られた3種類のポルフィリン誘導体のコ

15

ロン26（大腸癌）移植マウスにおける体内挙動を検討した。供試動物として体側部にコロン26を移植したCDF1系雌性マウスを用い、^{99m}Tcをラベル化した各種ボルフィリン誘導体（投与量1.5mM）をマウス尾静脈より投与し、腫瘍を含む体内分布を日立ガンマカメラ（RC-135E）および日立核医学画像処理装置（RP-200）を使用し、薬剤投与後1分間毎に撮像し（図1）データを記録した。ROI設定には腫瘍、肝臓、肺臓、心臓、大腿部を選択し、腫瘍と各臓器との比（表1およびクリアランスカーブ（図2）より各誘導体の体内動態を検討した。

10 【0052】

* 【表1】

化 合 物 名	時間	癌/臓器		
		癌/肝臓	癌/肺臓	癌/心臓
(39) ^{99m} Tc-STA-R21	3	0.295	1.730	1.309
	6	0.266	2.355	1.605
(41) ^{99m} Tc-STA-R12	3	0.324	5.136	1.651
	6	0.285	3.892	1.763
(43) ^{99m} Tc-STA-RN101	3	0.262	1.882	1.433
	6	0.185	2.272	1.927

【0053】図2は腫瘍、肝臓、肺臓、心臓および皮膚におけるクリアランスカーブを示す。腫瘍を除く他の臓器においては時間とともにカウントが減少するのに反して、腫瘍部分では180分に至るまで増大傾向を示し本誘導体が腫瘍組織に集積することを証明した。このことは^{99m}Tcのような放射性短半減期金属化合物の癌キヤリアーとしてSTA-Rシリーズが有用であることを示している。

【0054】実施例 16

¹⁰B-NH₂-Mn-SPの合成
W illiamsonのエーテル合成を準用して、ソジウムボロキャプティト-¹⁰B (Na₂¹⁰B₁₂H₁₁SCH₂CH₂COOH 500mgをジメチルスルフォキシド5mLに溶解し、ついでモノブロモブロビオン酸メチル400mgを加え、攪拌下に2N KOH 5mLを滴下し室温で3時間反応させた。反応液を中和後、析出した結晶を濾取し、乾燥後Na₂¹⁰B₁₂H₁₁SCH₂CH₂COOHの白色結晶を得た。(310mg、収率49.9%)

16

* 【0050】図1は^{99m}Tc-STA-R12(41)の投与3分後から30分毎に撮像したシンチグラム画像を示す。投与後30分までは腫瘍部分(↓印)に集積が認められなかったが、60分を越えた頃より次第に腫瘍部分が明瞭に画出できた。

【0051】表1は各誘導体(39、41および43)の投与後3時間、6時間時点における腫瘍と各臓器のカウント比を示す。肝臓を除いて、STA-Rシリーズは何れの場合にも高い腫瘍/臓器(比)を示した。

10 【0052】

* 【表1】

【0055】実施例 17

¹⁰B-NH₂-Mn-SPの合成
Na₂¹⁰B₁₂H₁₁SCH₂CH₂COOH 80mgをDMF 2mL、クロロホルム 20mLに溶解し、NaH₂-Mn-SP-Me 160mgを加えた後、WSC 100mgを数回に分けて添加し、室温攪拌下1時間反応させた。反応液を10%クエン酸溶液および0.9%生理食塩水にて洗浄後、クロロホルム層を減圧濃縮した。得られた濃縮物をエタノール5mLに溶解後、10%水酸化ナトリウム溶液10mLを加え加水分解した。加水分解液を20%クエン酸溶液にて中和後クロロホルムで抽出した。抽出物を減圧濃縮しメタノール-酢酸エチル-n-ヘキサンにて再沈殿を行い¹⁰B-NH₂-Mn-SP [STA-BX900(47)]を得た。(63mg、収率37.1%)

40 【0056】実施例 18

STA-BX900のKG1脳腫瘍移植ラットにおけるMR1造影動物実験

50 実施例17で得られたSTA-BX900(47)のK

17

G 1 脳腫瘍移植ラットにおける体内挙動をM R I にて検討した。供試動物として頭頂部に穿頭孔を開け表面より5 mmの深さで9 L グリオーマ細胞を移植2週間後のF isher 344系雌性ラットを用いた。S T A - B X 9 0 0 (47) ポルフィリン誘導体(投与量18 μ m o l / k g)をラット尾静脈より投与し、腫瘍を含む体内分布特に脳内分布をドイツ、ブルッカー社製動物用M R I 装置(B M T 2 4 / 4 0、地場強度2.4テスラ、マルチスピニエコー法、T r / T e = 5 0 0 / 2 8 m s e c)を使用して経時的にM R I 画像を撮像し、増強度を追跡した。その結果、薬剤投与1時間後から撮像が可能であり、24時間までほぼ一定になり、48時間後でも鮮明に画出されていた。そのM R I 画像を図3、図4、図5、図6に示す。

【0057】実施例 19

S T A - B X 9 0 0 のK G 1 脳腫瘍移植ラットにおける体内分布

薬剤量を100 μ m o l / k g 投与した以外は実施例18と同様にして操作し、投与90分後に動物を犠牲死させ、脳内組織をとりだし、Bの生体内分布量を誘導結合高周波プラズマ発光分析(I C P 分析)により求めた。その結果、B濃度は腫瘍脳では160 p p m 、血液中では44 p p m 、脳の正常部分では3 p p m であった。したがって脳内の癌化された部分のみに本化合物が集積していることが分かる。

【0058】

【発明の効果】本発明のポルフィリン誘導体はその側鎖*

18

* 上に不斉炭素を有さず、末端官能基にケトン基、水酸基、アミノ基、カルボキシル基を持ち、いかなる生理活性物質でも簡単に結合または縮合できるので、癌の診断(R I やM R I 用の薬剤)あるいは癌の治療薬(¹⁹ B を用いるB N C T 用の薬剤)にきわめて有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】^{99m} T C - S T A - R 1 2 (41) 投与後30分毎のシンチ画像を示す写真である。

10 【図2】^{99m} T C - S T A - R 1 2 (41) 投与後の腫瘍を含む各臓器のクリアランスカーブを示す図である。

【図3】薬剤投与前のラット脳のM R I 画像を示す写真である。

【図4】S T A - B X 9 0 0 (47) 投与6時間後のM R I 画像を示す写真である。

【図5】S T A - B X 9 0 0 (47) 投与24時間後のM R I 画像を示す写真である。

【図6】S T A - B X 9 0 0 (47) 投与48時間後のM R I 画像を示す写真である。

【符号の説明】

左上部の数字 薬剤投与後の時間(分)

↓印 腫瘍部分

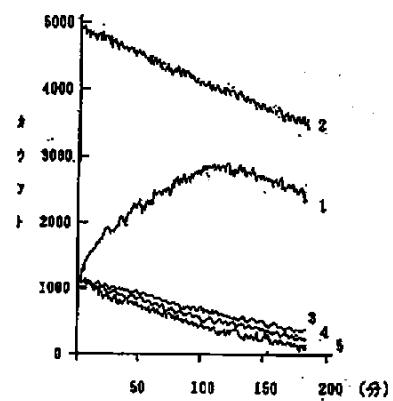
1	腫瘍
2	肝臓
3	肺臓
4	心臓
5	皮膚

【図1】

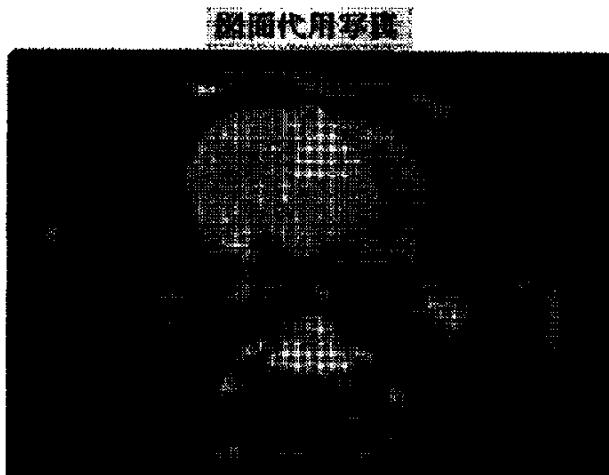
【図面代用写真】



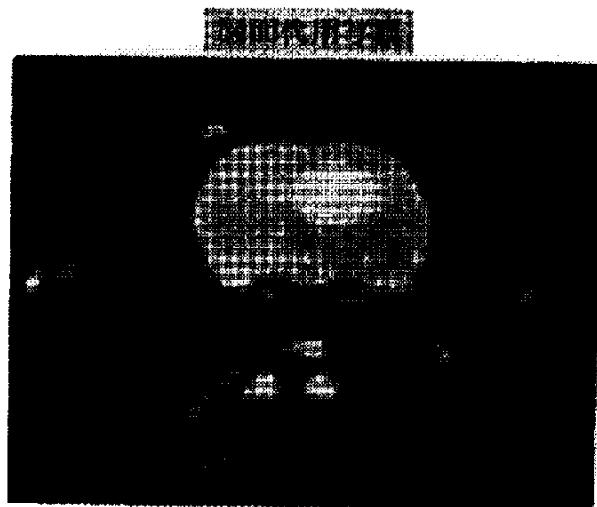
【図2】



【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

